

miR-29c 通过调控 SIRT1 表达介导 动脉粥样硬化氧化应激与炎症反应

李贞贞, 唐海涛, 王 怡, 周 青, 汪 渊, 朱华庆

摘要 目的 研究 miR-29c 能否通过调控沉默信息调节因子 2 相关酶类 1 (SIRT1) 的表达影响动脉粥样硬化(AS)进程中氧化应激及炎症反应。方法 采用 ApoE^{-/-} 基因敲除小鼠(ApoE^{-/-}), 经适应性饲养, 于 6 周龄时以高脂饲料喂养, 构建 AS 模型(AS 组); 以 C57BL/6J 小鼠为正常对照组, 给予普通饲料喂养。12 周后取主动脉, 检测 miR-29c 表达以及肿瘤坏死因子- α (TNF- α) mRNA 水平、活性氧(ROS)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶水平。培养人脐静脉内皮细胞(HUVEC), 分别转染 miR-29c mimic 和 antagomir, 以氧化型低密度脂蛋白(oxLDL) (50 μ g/ml) 进行刺激, 检测各组 TNF- α 表达、ROS、NADPH 氧化酶水平。此外, 实时 PCR 和 Western blot 检测 oxLDL 诱导的内皮细胞损伤模型中 SIRT1 mRNA 及蛋白表达水平变化, 并进一步检测正常细胞转染 miR-29c mimic 与 antagomir 后 SIRT1 mRNA 及蛋白表达水平。结果 与正常组比较, AS 组 miR-29c 表达及 TNF- α mRNA、ROS、NADPH 氧化酶水平均明显升高 ($P < 0.05$)。oxLDL 刺激后, 与对照组相比, 转染 miR-29c antagomir 细胞中 TNF- α 、ROS、NADPH 氧化酶水平均明显降低 ($P < 0.05$); 与之相反, 转染 miR-29c mimic 细胞中 TNF- α 、ROS、NADPH 氧化酶水平明显升高 ($P < 0.05$)。此外, oxLDL 刺激 HUVEC 后, 细胞的 SIRT1 mRNA 与蛋白表达水平均有所降低 ($P < 0.05$)。然而, 正常细胞转染 miR-29c mimic 和 antagomir 后结果显示在 SIRT1 mRNA 水平上差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而 SIRT1 蛋白表达水平有差异, 且差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示 miR-29c 对 SIRT1 的调控可能处于翻译后水平。结论 miR-29c 可下调 SIRT1 表达进而增强 AS 进程中氧化应激及炎症反应。

关键词 miR-29c; 动脉粥样硬化; SIRT1; 炎症; 氧化应激

中图分类号 R 972.6; R 364.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2020)02-0172-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.02.004

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS) 是一种脂质

堆积在动脉壁进而发生粥样病变并导致血管腔狭窄的慢性炎症性疾病, 严重危害人类健康。AS 所致的冠状动脉疾病、中风、外周动脉疾病等心血管疾病是人类高发病率和死亡率的主要原因^[1-3]。沉默信息调节因子 2 相关酶类 1 (silent mating type information regulation 2 homolog-1, SIRT1) 是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性的组蛋白去乙酰化酶。研究^[4]表明, SIRT1 可通过去乙酰化下游靶分子来调节细胞代谢、减缓衰老, 抑制氧化应激, 减少炎症反应。

微 RNA (microRNA, miRNA) 是一种内源性的、长约 22 nt、单链非编码的小 RNA, 通过与靶基因 mRNA 的 3'-非编码区(3'-UTR) 结合, 降解或抑制其翻译, 从而调控基因表达^[5]。近年来, 越来越多的研究表明 miRNA 在 AS 的发生发展过程中起关键作用。其中, 文献^[6]报道 miR-29 可参与多种疾病或病理状态的发生发展过程, 并且 miR-29c 在 AS 形成中可能发挥多方面的重要作用, 但具体的作用机制尚不清楚。因此研究 miR-29c 在 AS 形成过程中的作用机制具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂 清洁级雄性 C57BL/6J 小鼠与 C57BL/6J ApoE^{-/-} 小鼠各 6 只, 体质量 (14 $\pm$ 1.8) g, 购自北京协和医学院基础研究所; 人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) 购自美国 ATCC 细胞库; DMEM 高糖培养基干粉与胎牛血清 (FBS) 购自美国 Gibco 公司; 二甲亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 购自美国 Sigma 公司; 氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, oxLDL) 购自广州 Yiyuan Biotechnologies; Mimic 与 TransMessenger Transfection Reagent 试剂盒购自德国 Qiagen; Antagomir 购自上海 GenePharma; 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 检测试剂盒购自上海 BestBio 公司; TNF- α 检测试剂盒购自美国 Adipo Bioscience 公司; BCA 试剂盒购自上海碧云天生物技术公司; 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸

2019-11-04 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81570419)

作者单位: 安徽医科大学分子生物学实验室, 安徽省/省部共建教育部重要遗传病基因资源利用重点实验室, 合肥 230032

作者简介: 李贞贞, 女, 硕士研究生;

朱华庆, 男, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: aydzhq@126.com

(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NAD-PH) 氧化酶活性化学发光法定量检测试剂盒购自上海宸功生物技术有限公司; 总 RNA 提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司; 逆转录试剂盒购自日本 Takara 公司; 一抗 SIRT1 购自英国 Abcam 公司, 内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 购自美国 Santa Cruz 公司; 二抗购自北京中杉金桥公司。

1.2 主要仪器 酶标仪 (Thermo MultiskanGO, 美国 Thermo-Fisher 公司); 低温离心机 (Sorvall Legend Micro 21R, 美国 ThermoFisher Scientific); 电泳仪 (DYY-41 型, 北京六一仪器厂); -80°C 冰箱 (MDF-U73V, 日本 sanyo); CO_2 细胞培养箱 (MCO-20AIC, 日本 Panasonic 公司); 超净工作台 (SW-CJ-4F 型, 苏州净化); 正置显微镜 (DM4000B, 德国 Leica 公司); 立式压力蒸汽灭菌器 (BXM-30R, 上海博讯公司); 制冰机 (AF100, 意大利 SCOTSMAN 公司); 电子天平 (DC-120AS, 南京苏测计量仪器有限公司); 摇床 (TS-4 型, 海门其林贝尔仪器制造有限公司); 全自动数码凝胶成像系统 (ChemiQ 4600, 上海欧翔公司); 恒温水浴锅 (DK-8D 型, 上海跃进医疗器械厂); PCR 仪 (T-Gradient Thermoblock, 德国 Biometra)。

1.3 方法

1.3.1 建立模型 清洁级 ApoE^{-/-} 小鼠与 C57BL/6J 小鼠各 6 只, 常规方法建立 AS 模型, 即小鼠于 4 周龄断奶后, 采用明暗 (12 h : 12 h), 温度 (22 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 湿度 50% ~ 60% 条件下以普通饲料 (4% 脂肪和 0% 胆固醇) 进行适应性饲养, AS 组 ApoE^{-/-} 小鼠于 6 周龄时采用高脂饲料 (21% 脂肪和 0.15% 胆固醇) 喂养。以 C57BL/6J 为正常对照组 (正常组), 给予普通饲料进行饲养。12 周后处死分离主动脉进行相关实验。

1.3.2 细胞的培养与分组 复苏 HUVEC 细胞后, 以高糖 DMEM 培养基 (含 10% FBS、1% 青链霉素混合液) 于 37°C 、5% CO_2 恒温培养箱中培养, 当细胞密度达 80% 时用 0.25% 胰酶进行消化传代。采用 oxLDL (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 刺激 HUVEC 细胞进行后续细胞实验。细胞分组: 空载体转染组 (对照组)、Antagomir 组、Mimic 组、oxLDL 组、oxLDL + Antagomir 组、oxLDL + Mimic 组。

1.3.3 细胞转染 miR-29c 的过表达与抑制 HUVEC 细胞转染 miR-29c mimic 和 antagomir。转染前 1 d, 消化对数生长期 HUVEC 细胞, 以 $1.0 \times 10^6 \sim$

2.0×10^6 /孔接种于 6 孔板中, 加入培养基 (含 10% FBS), 摇匀后放置 37°C 培养箱。根据 TransMessenger Transfection Reagent 试剂盒说明书进行细胞转染, 3 ~ 4 h 后换成完全培养基, 于 CO_2 恒温培养箱中继续培养。

1.3.4 ROS 检测 组织 ROS 检测: 取 50 mg 动脉, 加入 1 ml 匀浆缓冲液 A, 置于研磨器中研磨, 充分匀浆后于 4°C 离心机中离心 (1 000 r/min, 10 min), 弃去沉淀, 吸取上清液。在 96 孔板中加入 190 μl 匀浆上清液和 10 μl 探针, 混匀后 37°C 孵育 30 min 后置于荧光酶标仪在激发波长 488 nm、发射波长 520 nm 下进行检测。细胞 ROS 检测: 根据试剂盒说明书进行操作, 荧光探针 DCFH-DA 用无血清培养液进行稀释 (1 : 1 000), 收集细胞后加入稀释好的 DCFH-DA 中制成悬液, 于 37°C 培养箱中孵育 20 min, 用无血清培养液洗涤 3 次, 洗去未进入细胞的荧光探针, 在激发波长 488 nm、发射波长 525 nm 条件下测定荧光强度。采用 BCA 蛋白定量法进行蛋白定量。

1.3.5 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 测定 取细胞培养的上清液, 于 4°C 离心机 (2 000 r/min, 5 min) 进行离心, 收集上清液于 -80°C 保存待测。根据 TNF- α 检测试剂盒说明书进行实验, 测定样品的吸光度值, 根据所绘标准曲线计算出样品的相应浓度。

1.3.6 NADPH 氧化酶活性检测 准备组织及细胞, 分别按组织与细胞 NADPH 氧化酶活性化学发光法定量检测试剂盒说明书实验步骤进行实验, 背景对照测定后检测样品总活性以及样品非特异性活性, 最后计算出样品中 NADPH 氧化酶的实际活性。

1.3.7 Real time PCR 根据总 RNA 提取试剂盒说明书进行操作, 提取总 RNA 后, 用逆转录试剂盒进行逆转录。GAPDH 为内标, 逆转录的 cDNA 为模板, 采用 SYBR green 对各基因进行实时 PCR。各基因相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示, 每个样品重复 3 次。

1.3.8 Western blot 法检测 已处理细胞达 80% 后, PBS 洗 3 次, 加入 100 μl 含蛋白酶抑制剂的蛋白裂解液, 冰上裂解 30 min 后收集细胞蛋白, 4°C 、14 000 r/min 离心 30 min, 取上清液, 用 BCA 法测定蛋白浓度, 用蛋白裂解液配成同体积同浓度液体, 再加入蛋白上样缓冲液, 混匀, 然后煮沸使蛋白变性, -80°C 保存。配制 SDS-PAGE 凝胶, 等量上样进行电泳, 然后转移到 PVDF 膜上。置摇床室温封闭 2 h (5% 脱脂牛奶), 一抗 SIRT1 (1 : 10 000) 4°C 摇床

孵育过夜,二抗兔抗(1:5 000)室温孵育2 h后进行显影。用QuantityOne软件分析各条带的灰度值,以GAPDH为参照,计算相对灰度值。

1.4 统计学处理 采用SPSS 18.0软件进行数据分析,组间比较采用单因素方差分析和 t 检验,数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AS中miR-29c、TNF- α mRNA、ROS、NADPH氧化酶水平升高 与正常组相比,miR-29c在AS小鼠主动脉中的表达明显升高;TNF- α mRNA水平显著升高,并且ROS水平和NADPH氧化酶活性也明显提高,即炎症和氧化应激水平明显提高。见表1。

表1 主动脉miR-29c水平以及TNF- α mRNA水平、ROS水平和NADPH氧化酶活性($n=6, \bar{x} \pm s$)

项目	正常组	AS组	t 值	P 值
miR-29c/U6	1.00 $\pm$ 0.10	2.23 $\pm$ 0.24	15.56	0.001
TNF- α /GAPDH	1.80 $\pm$ 0.30	65.52 $\pm$ 10.41	24.90	<0.001
ROS水平	0.99 $\pm$ 0.21	4.03 $\pm$ 0.21	19.78	<0.001
NADPH氧化酶活性	1.03 $\pm$ 0.28	3.16 $\pm$ 0.58	17.92	0.005

2.2 miR-29c可增加oxLDL诱导的HUVEC细胞中TNF- α 表达、ROS生成与NADPH氧化酶活性 与对照组比较,oxLDL组细胞内的TNF- α 水平、ROS水平与NADPH氧化酶活性均明显提高;转染Mimic和Antagomir后细胞的TNF- α 水平、ROS生成与NADPH氧化酶活性较对照组无明显变化。此外,oxLDL刺激细胞后,Antagomir组细胞的TNF- α 水平、ROS生成与NADPH氧化酶活性较对照组均明显降低,而Mimic组细胞的TNF- α 水平、ROS生成与NADPH氧化酶活性较对照组均明显升高。见表2。

表2 各组细胞TNF- α 含量、ROS水平与NADPH氧化酶活性($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α (pg/ml)	ROS水平	NADPH氧化酶活性
空载体转染(对照)	317.76 $\pm$ 10.02	0.96 $\pm$ 0.12	1.00 $\pm$ 0.21
oxLDL	1 056.92 $\pm$ 41.54*	2.68 $\pm$ 0.22*	2.89 $\pm$ 0.18*
Antagomir	330.31 $\pm$ 18.09	1.14 $\pm$ 0.20	0.93 $\pm$ 0.11
Mimic	327.10 $\pm$ 20.36	1.15 $\pm$ 0.16	1.08 $\pm$ 0.13
oxLDL + Antagomir	780.00 $\pm$ 31.02#	1.92 $\pm$ 0.17#	2.40 $\pm$ 0.15#
oxLDL + Mimic	1 338.00 $\pm$ 32.31#	3.25 $\pm$ 0.22#	3.31 $\pm$ 0.16#
F 值	757.361	77.705	132.050
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与oxLDL组比较: # $P < 0.05$

2.3 oxLDL诱导下HUVEC细胞的SIRT1活性和表达降低 Real time PCR与Western blot法检测结果显示,与对照组相比,oxLDL组SIRT1 mRNA和蛋白表达均明显降低,差异有统计学意义($t=4.260, P=0.013$; $t=4.905, P=0.008$)。见图1。

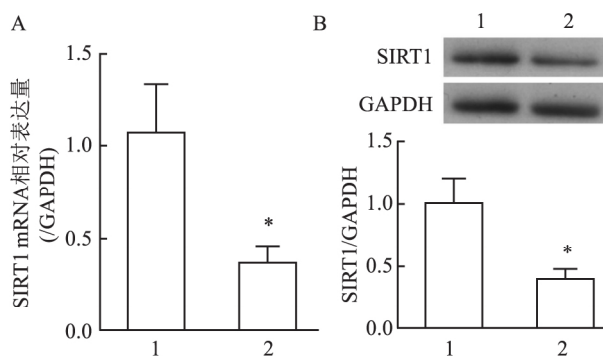


图1 HUVEC中SIRT1 mRNA水平及蛋白表达

A: 细胞中SIRT1 mRNA水平; B: 细胞中SIRT1蛋白表达; 1: 对照组; 2: oxLDL组; 与对照组比较: * $P < 0.05$

2.4 miR-29c调控SIRT1表达 Real time PCR与Western blot法检测结果显示,与对照组比较,Antagomir组和Mimic组细胞的SIRT1 mRNA水平并无明显变化,差异无统计学意义($t=0.583, P=0.591$; $t < 0.001, P=1.000$)。见图2A、2B;然而,Antagomir组细胞的SIRT1蛋白表达显著升高,而Mimic组细胞的SIRT1蛋白表达则明显降低,差异有统计学意义($t=12.422, P < 0.001$; $t=4.691, P=0.009$)。见图2C、2D。

3 讨论

miR-29c属miR-29家族,在人类癌症中大多下调。近年来有研究^[8]表明,miR-29c可以通过靶向细胞外基质蛋白如胶原蛋白3A1和胶原蛋白4A5的mRNA来调节AS。此外,miR-29c可通过抑制胰岛素样生长因子1来抑制内皮细胞的迁移和血管生成^[9]。最近,miR-29c被报道可作为鉴别AS患者的生物标志物^[8]。以上研究表明,miR-29c在AS发展过程中发挥重要作用。

oxLDL可引起内皮细胞功能障碍,是AS发生的主要危险因素。本研究采用oxLDL刺激HUVEC模拟高脂血症损伤模型,研究miR-29c在AS发展中的潜在作用。数据显示,与正常组相比,miR-29c在AS小鼠主动脉的表达明显上调。此外,课题组对SIRT1下游的炎症和氧化应激指标如TNF- α 、ROS、NADPH氧化酶活性作了检测。结果显示,与正常组

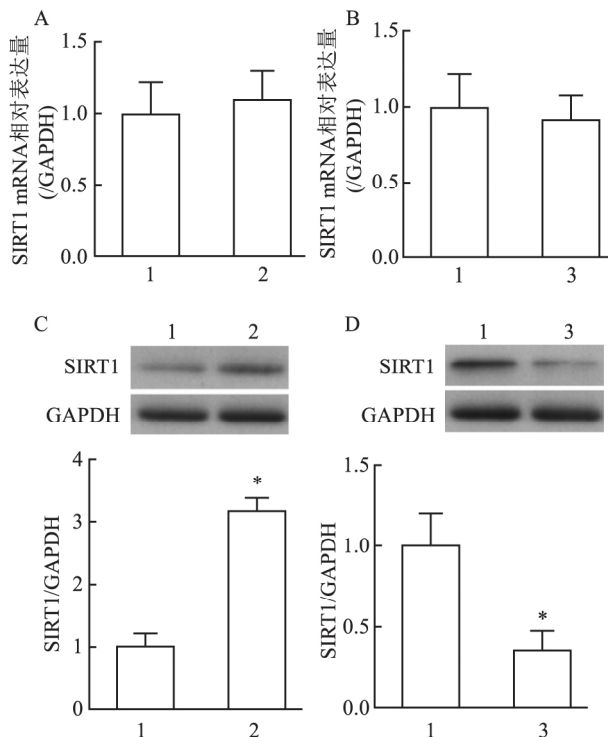


图2 转染 miR-29c Mimic 或 Antagomir 后细胞的

SIRT1 mRNA 水平以及蛋白表达

A、B: 细胞中 SIRT1 mRNA 水平; C、D: 细胞中 SIRT1 蛋白表达;

1: 对照组; 2: Antagomir 组; 3: Mimic 组; 与对照组比较: * $P < 0.05$

相比,AS 小鼠主动脉的 $\text{TNF-}\alpha$ mRNA 水平、ROS 生成与 NADPH 氧化酶活性明显增高。在 HUVEC 培养中,经 oxLDL 刺激后,与对照组比较,转染 miR-29c antagomir 的细胞中 $\text{TNF-}\alpha$ 的表达、ROS 生成与 NADPH 氧化酶活性均明显降低,而转染 miR-29c mimic 的细胞中 $\text{TNF-}\alpha$ 的表达、ROS 生成与 NADPH 氧化酶活性均明显升高,差异均有统计学意义。由此可见,miR-29c 水平与关键炎症因子 $\text{TNF-}\alpha$ 水平、ROS、NADPH 氧化酶活性显著相关。

SIRT1 是 sirtuin 家族成员之一,在内皮细胞中高度表达,具有组蛋白脱乙酰酶的活性,可参与细胞的生长、凋亡等许多生物过程^[8]。有研究^[10]表明,SIRT1 可抑制 NADPH 氧化酶活性,减少 ROS 产生,从而保护血管内皮功能。此外,SIRT1 的特异性激活剂 SIRT1720 可通过抑制 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 信号传导,减少血管紧张素 II 诱导的多种促炎因子如 $\text{TNF-}\alpha$ 、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein 1, MCP-1) 等的表达,减少炎症细胞浸润,从而发挥抗 AS 作用^[11]。因此,SIRT1 缺陷会增加炎症和氧化应激,促进 AS 发生。有研究^[12]报道,在肝癌中 miR-29c 通过直接靶向 SIRT1 抑制肝癌细胞生长从而起

到肿瘤抑制剂的作用。此外,抑制 miR-29 可通过升高 SIRT1 的活性和表达来抑制脂肪的生成^[13]。本研究显示,oxLDL 刺激后,与对照组相比,HUVEC 的 SIRT1 mRNA 和蛋白表达水平均降低,并且在转染 miR-29c mimic 细胞中 SIRT1 蛋白的表达明显降低,转染 miR-29c antagomir 细胞中 SIRT1 的表达显著上升。然而,转染 miR-29c mimic 和 antagomir 细胞中的 SIRT1 mRNA 水平较对照组差异无统计学意义,提示 miR-29c 对 SIRT1 的调控处于翻译后水平。

综上,miR-29c 在 AS 发展过程中高表达,抑制 miR-29c 可上调 SIRT1 的表达,进而抑制 NADPH 氧化酶活性,减少 ROS 生成及炎症因子 $\text{TNF-}\alpha$ 表达,从而减弱 AS 氧化应激和炎症反应。得出结论:miR-29c 可下调 SIRT1 表达进而增强 AS 中氧化应激及炎症反应。未来有必要进一步探讨 miR-29c 调控 SIRT1 参与 AS 氧化应激和炎症过程的具体作用机制,对防治 AS 有重要意义。

参考文献

- Taleb S. Inflammation in atherosclerosis [J]. Arch Cardiovasc Dis, 2016, 109(12): 708-15.
- 刘俊田. 动脉粥样硬化发病的炎症机制的研究进展 [J]. 西安交通大学学报(医学版), 2015, 36(2): 141-52.
- Kitada M, Ogura Y, Koya D. The protective role of Sirt1 in vascular tissue: its relationship to vascular aging and atherosclerosis [J]. Aging (Albany NY), 2016, 8(10): 2290-307.
- 王乐, 王卫杰, 李惠, 等. 动脉粥样硬化相关 miRNA 研究进展 [J]. 临床医药实践, 2017, 26(1): 54-6, 65.
- Kriegel A J, Liu Y, Fang Y, et al. The miR-29 family: genomics, cell biology, and relevance to renal and cardiovascular injury [J]. Physiol Genomics, 2012, 44(4): 237-44.
- Khorram O, Chuang T D, Pearce W J. Long-term effects of maternal undernutrition on offspring carotid artery remodeling: role of miR-29c [J]. J Dev Orig Health Dis, 2015, 6(4): 342-9.
- Hu Y, Deng F, Song J, et al. Evaluation of miR-29c inhibits endothelial cell migration and angiogenesis of human endothelial cells by suppressing the insulin like growth factor 1 [J]. Am J Transl Res, 2015, 7(3): 489-501.
- Huang Y Q, Li J, Huang C, et al. Plasma microRNA-29c levels are associated with carotid intima-media thickness and is a potential biomarker for the early detection of atherosclerosis [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 50(2): 452-9.
- 马晓辰, 薛明明. 沉默信息调节因子 1 在动脉粥样硬化中的保护作用 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(16): 100-1, 104.
- Zarzuelo M J, López-Sepúlveda R, Sánchez M, et al. SIRT1 inhibits NADPH oxidase activation and protects endothelial function in the rat aorta: implications for vascular aging [J]. Biochem Pharmacol, 2013, 85(9): 1288-96.

- [1] Chen Y X, Zhang M, Cai Y, et al. The Sirt1 activator SRT1720 attenuates angiotensin II-induced atherosclerosis in apoE^{-/-} mice through inhibiting vascular inflammatory response [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 465(4):732–8.
- [2] Bae H J, Noh J H, Kim J K, et al. MicroRNA-29c functions as a tumor suppressor by direct targeting oncogenic SIRT1 in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogene*, 2014, 33(20):2557–67.
- [3] Kurtz C L, Fannin E E, Toth C L, et al. Inhibition of miR-29 has a significant lipid-lowering benefit through suppression of lipogenic programs in liver [J]. *Sci Rep*, 2015, 5:12911.

miR-29c influence oxidative stress and inflammation in atherosclerosis by regulating the expression of SIRT1

Li Zhenzhen, Tang Haitao, Wang Yi, et al

(Dept of Biochemistry and Laboratory of Molecular Biology of Anhui Medical University,
Key Laboratory of Gene Utilization for Severe Disease of Anhui Province, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the roles of miR-29c in regulating the expression of silent mating type information regulation 2 homolog-1 (SIRT1) involved in atherosclerosis (AS) oxidative stress and inflammatory processes. **Methods** After adaptive feeding, ApoE^{-/-} knockout mice (ApoE^{-/-}) were fed with a high-fat diet to build the atherosclerosis model at 6 weeks of age. In addition, C57BL/6J mice was used as the normal control group and fed with normal feed. After 12 weeks, the expression of miR-29c, tumor necrosis factor- α (TNF- α) mRNA, reactive oxygen species (ROS) production and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase activity were detected in mouse aorta. Meanwhile, human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were cultured *in vitro*, transfected with miR-29c mimic and antagomir respectively and stimulated with oxidized low density lipoprotein (oxLDL) (50 μ g/ml). The levels of TNF- α , ROS and NADPH oxidase activity were tested in each group. Besides, the expression of SIRT1 mRNA and protein were detected in HUVEC after the stimulation of oxLDL by real time PCR and Western blot, which were also determined in miR-29c mimic and antagomir group. **Results** The results showed that the expression of miR-29c, TNF- α mRNA, ROS and NADPH oxidase activity significantly increased in AS group compared with the normal group. Under the stimulation of oxLDL, compared with the control group, the levels of TNF- α , ROS and NADPH oxidase activity in the cells decreased significantly when treated with miR-29c antagomir. On the contrary, the levels of TNF- α , ROS and NADPH oxidase activity were significantly increased after miR-29c mimic treatment. In addition, the expression of SIRT1 mRNA and protein were reduced in HUVEC after the stimulation of oxLDL. However, compared with the control group, there was no statistical difference in SIRT1 mRNA level in the antagomir and mimic groups, but the expression of SIRT1 protein was significant difference in the antagomir and mimic groups. The above indicated that the modulation of SIRT1 induced by miR-29c was at the post-translational level. **Conclusion** miR-29c can down-regulate the expression of SIRT1 and enhance oxidative stress and inflammatory response in the process of AS.

Key words miR-29c; atherosclerosis; SIRT1; inflammation; oxidative stress